



HAL
open science

Preliminary studies of the bacterial community at a coastal hydrothermal vent (White-Point, Southern California, USA)

E Jacq, G Geesey, D Prieur

► **To cite this version:**

E Jacq, G Geesey, D Prieur. Preliminary studies of the bacterial community at a coastal hydrothermal vent (White-Point, Southern California, USA). *Vie et Milieu / Life & Environment*, 1987, pp.59-66. hal-03024967

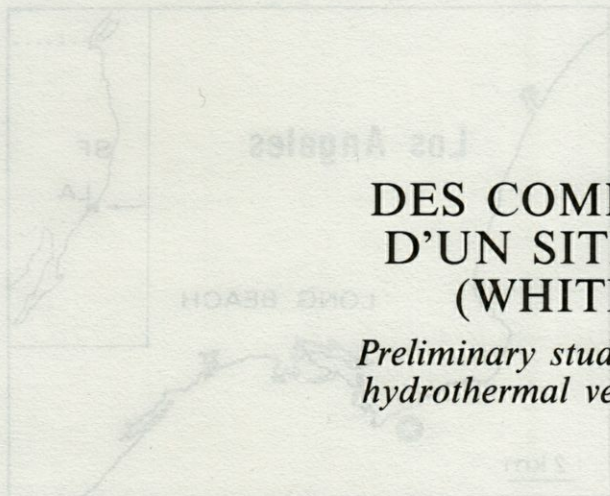
HAL Id: hal-03024967

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-03024967v1>

Submitted on 26 Nov 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



ÉTUDE PRÉLIMINAIRE DES COMMUNAUTÉS BACTÉRIENNES D'UN SITE HYDROTHERMAL CÔTIER (WHITE-POINT, CALIFORNIE, USA)

*Preliminary studies of the bacterial community at a coastal
hydrothermal vent (White-Point, Southern California, USA)*

E. JACQ *, G. GEESEY**, D. PRIEUR*

* Laboratoire de Zoologie, Bactériologie Marine,
Université de Bretagne Occidentale, 29287 Brest Cédex, France

** Department of Microbiology, California State University, Long Beach, CA 90840 USA.

FILAMENT
BACTÉRIE
HYDROTHERMALISME
MIXOTROPHIE

RÉSUMÉ. — L'étude microscopique du tapis filamenteux présent sur le site hydrothermal côtier de White-Point, (Californie, USA) met en évidence la grande variété des types bactériens filamenteux qui le composent. Certains de ces filaments sont à rapprocher de ceux observés sur les sites hydrothermaux profonds, dont ils se distinguent toutefois par de plus grandes dimensions. Ainsi les filaments les plus larges, 76-100 μm , présentent des caractéristiques proches de celles de *Beggiatoa*, si ce n'est qu'ils semblent fixés à un substrat. Les Bactéries isolées à partir de ce tapis filamenteux sont mixotrophes, se développant aussi bien à partir d'un composé soufré, le thiosulfate, que de composés organiques. Les conditions classiques de culture n'ont pas permis un développement des formes filamenteuses et il apparaît que les peuplements mixtes se développent mieux en milieu inorganique que les souches isolées.

FILAMENT
BACTERIA
HYDROTHERMALISM
MIXOTROPHY

ABSTRACT. — Microscopic examination of the filamentous mats that occur around the coastal hydrothermal vent at White-Point (Southern California, USA) reveals the high complexity of the filamentous bacterial communities. Some filaments are like those described from the deep hydrothermal vents, except their biggest size. Indeed, the largest filaments, 76-100 μm , are resembling *Beggiatoa* but they are not fixed on a substratum. The bacterial strains isolated from this site are mixotrophic, and grow on thiosulfate as well as on organic compounds. Common plate and liquid media did not allow cultivation of filamentous bacterial forms. Mixed cultures seemed to grow on inorganic substrates better than did the pure cultures.

INTRODUCTION

Les sites d'hydrothermalisme actifs sont caractérisés par la présence d'abondantes communautés bactériennes chimiolithotrophes qui utilisent comme source d'énergie les composés rejetés par les fluides hydrothermaux (Ruby *et al.*, 1981; Felbeck et Somero, 1982; Stein, 1984; Jannasch, 1985). Une fraction importante de ces communautés bactériennes est constituée de Bactéries sulfo-oxydantes qui

peuvent représenter 79 % des peuplements bactériens (Wirsén *et al.*, 1986). Les Bactéries, libres ou symbiontes d'Invertébrés, réalisent l'oxydation des composés soufrés réduits provenant des fluides hydrothermaux et constituent le premier maillon de la chaîne alimentaire des écosystèmes hydrothermaux profonds (Ruby et Jannasch, 1981; Ruby *et al.*, 1981; Felbeck et Somero, 1982; Fry *et al.*, 1983; Tuttle *et al.*, 1983; Stein, 1984; Jannasch, 1985; Jannasch et Wirsén, 1985).

Sur certains sites profonds, comme celui des Galapagos ou le bassin de Guyamas, une partie de cette communauté bactérienne se présente sous forme de tapis extrêmement denses de Bactéries filamenteuses qui couvrent les surfaces avoisinant les rejets hydrothermaux (Jannasch et Wirsén, 1981; Tuttle, 1985).

Ces Bactéries, proches des genres *Beggiatoa* ou *Thiothrix* (Jannasch et Wirsén, 1987) sont apparemment absentes des surfaces inertes dans d'autres sites (13°N) mais des formes comparables, épibiontes du Polychète *Alvinella pompejana* ont été décrites (Gaillet *et al.*, 1987). Malgré l'importante biomasse qu'ils représentent, le métabolisme et le rôle potentiel de ces filaments comme source de nourriture pour les Invertébrés restent mal connus (Tuttle, 1985). En effet, à la difficulté d'accès de ces sites profonds, s'ajoute la difficulté d'obtenir en laboratoire des cultures de ces Bactéries sous forme filamenteuse (Ruby *et al.*, 1981; Tuttle *et al.*, 1983).

Des Bactéries filamenteuses similaires ont été également observées sur un site hydrothermal côtier de la côte sud californienne (Stein, 1984). Le tapis bactérien filamenteux recouvre toute les surfaces dans un rayon d'1 à 2 m autour des rejets hydrothermaux. Ces rejets très proches du rivage (100 à 200 m) émergent à une profondeur inférieure à 15 m et sont donc accessibles en plongée autonome. Ces sites constituent donc une zone d'étude privilégiée, pour une meilleure compréhension de la structure et du fonctionnement de ces communautés bactériennes particulières.

Les résultats préliminaires obtenus au cours d'une mission effectuée en 1985 font l'objet de cet article.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les prélèvements ont été réalisés en plongée autonome en zone subtidale sur le site hydrothermal côtier de White Point, Californie, U.S.A. (fig. 1). Les échantillons de filaments bactériens ont été obtenus par grattage de substrats rocheux et de coquilles d'Invertébrés (principalement un Gastéropode, *Norrisia norrisii*), puis placés dans des sachets stériles. De plus, en vue d'étudier la zone de fixation de ces filaments sur les substrats, des fractions d'Algues également colonisées par ces Bactéries ont été découpées.

Dès le retour sur la plage, une partie des échantillons a été préfixée dans une solution tampon : 0,067 M de tampon cacodylate, NaCl 4 %, rouge de Ruthenium 0,015 %, glutaraldehyde 0,5 %, puis définitivement fixée dans une solution à 5 % de glutaraldehyde.

Les observations microscopiques directes ont été effectuées en microscopie à contraste de phase et à épifluorescence selon la méthode décrite par Geesey

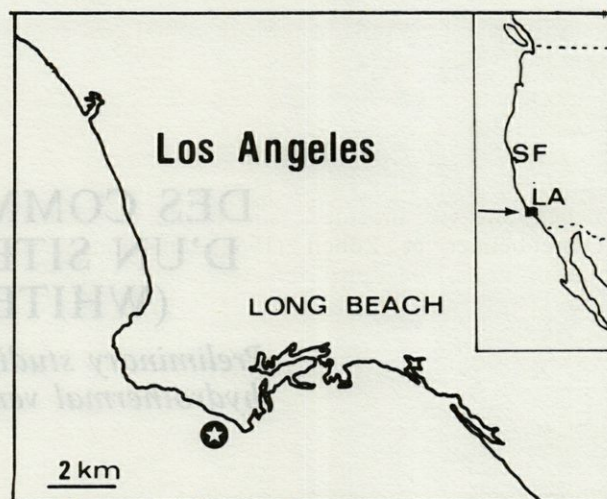


Fig. 1. — Localisation du site hydrothermal côtier de White-Point. SF : San Francisco, LA : Los Angeles (33. 42'50"N, 118. 19'00"W).

Location of the coastal hydrothermal vent — White-Point.

et al., (1978). Dans ce cas, la concentration finale d'acridine orange préparée dans un tampon phosphate 0,1 M est de 0,01 %.

Les échantillons destinés à la microscopie électronique à transmission sont placés 3 heures dans une solution de tétraoxyde d'osmium à 2 % préparée dans du tampon phosphate, puis déshydratés dans des solutions de 2-hydroxyéthyl méthacrylate (GMA) dans de l'eau distillée, de concentrations croissantes (30, 50, 70, 80, 90, 95, et 100 %). Entre chaque bain, 5 rinçages de 10 minutes sont réalisés dans la solution tampon. L'imprégnation des échantillons ainsi déshydratés s'effectue dans un premier temps dans une solution 1 : 1 GMA et résine (SPURR, 1969) puis dans la résine à 100 % à 20 ° C pendant 2 heures. Les échantillons sont alors transférés dans de la résine fraîche et polymérisés à 70 ° C pendant 8 heures. Les coupes fines sont réalisées avec un ultramicrotome LKB, colorées à l'acétate d'uranyl (1 %) et au citrate de plomb (1 %), puis observées au microscope électronique Siemens 1A ou RCA. EMU 4.

Les granules de sulfure ont été déterminés selon la méthode de Skeiman modifiée par Strohl et Larkin (1978). Afin d'obtenir des cultures de ces communautés bactériennes, des échantillons de filaments bactériens ont été inoculés dans les milieux décrits par Adair et Gunderson (1969; milieu AG, pH = 7,5) et Tuttle *et al.*, milieu TB, pH = 5 et pH = 7). Ces milieux liquides permettent la croissance des bactéries sulfo-oxydantes (à partir de thiosulfate) et ne contiennent pas de matière organique. Les échantillons ont été incubés 21 jours à 15 ° C (température *in situ*) sous agitation constante. L'évolution des peuplements bactériens est suivie en mesurant périodiquement l'évolution du pH (Ruby *et al.*, 1981). Après 3 semaines d'incubation, les

échantillons ont été repiqués sur un milieu gélosé en vue d'isoler des souches pures.

Les souches obtenues ont été réinoculées en milieu liquide et leur croissance estimée par l'étude des variations de pH, et de la concentration en thiosulfate. Afin de vérifier leur autotrophie, ces souches ont été inoculées sur le milieu 2216E d'Oppenheimer et Zobell (1952), classiquement utilisé pour les Bactéries hétérotrophes du milieu marin.

RÉSULTATS

Observations microscopiques des peuplements bactériens

Les échantillons obtenus par grattage d'une surface présentent une grande variété de types bactériens (morphologie et dimensions), principalement en ce qui concerne les formes filamenteuses (planche Ia). La microscopie électronique à transmission permet de confirmer la nature procaryotique de ces filaments et d'en distinguer plusieurs types. Certains sont caractérisés par la présence de vacuoles claires aux électrons (pl. Ic et pl. Id), tandis que d'autres sont entourés d'une gaine exopolymérique colonisée par des cellules bactériennes de petite taille (pl. Ib). L'absence de septum et la présence de nombreux granules denses aux électrons à l'intérieur et à la périphérie de la cellule ont été notées chez d'autres filaments (pl. Ie).

Les filaments observés les plus fréquemment ont un diamètre de 10 à 20 μm et ils contiennent des granules de soufre, principalement concentrés dans la partie distale du filament (pl. IIa et b).

La zone de fixation de ces filaments a été étudiée à partir de la surface algale. Les filaments sont fixés par une de leurs extrémités, perpendiculairement au substrat (pl. IIa). Le mode de fixation n'a pu être observé avec précision, mais la zone de contact algue-filament est caractérisée par une accumulation de particules détritiques et de cellules bactériennes (pl. IIc et d).

Des filaments de plus grande taille, dont le diamètre varie de 76 à 100 μm sont également observés dans ce tapis filamenteux (pl. IIIa). Ce type filamenteux, visible à l'œil nu, est constitué de cellules plus larges que hautes et de dimensions 76-100 \times 20-25 μm . Ces cellules contiennent de nombreuses inclusions de soufre mises en évidence sur la planche IIIb. En microscopie électronique on constate que les inclusions intracellulaires sont principalement concentrées à la périphérie de la cellule près de la membrane cytoplasmique (pl. IIIc). Parmi ces structures intracellulaires, aucune ne correspond à celles présentes dans les cellules photosynthétiques.

L'absence d'une gaine exopolymérique ne permet pas à une microflore associée de se développer au contact de ces filaments.

Cultures en milieu liquide

Deux échantillons du tapis filamenteux, présentant un aspect différent *in situ*, ont été mis en culture dans les milieux liquides TB (pH = 5 et pH = 7) et AG (pH = 7,5). Le premier (1) correspondait à un tapis filamenteux dense, hétérogène et en touffe tandis qu'au niveau du deuxième (2), les filaments étaient individualisés. La figure 2a représente l'évolution du pH pour ces échantillons (les variations de pH des tubes témoins sont toujours restées inférieures à 0,5 unité pH). Au cours de l'incubation, d'importantes variations de pH sont observées correspondant soit à une alcalinisation (échantillon 1) soit à une acidification (échantillon 2). Ainsi le pH

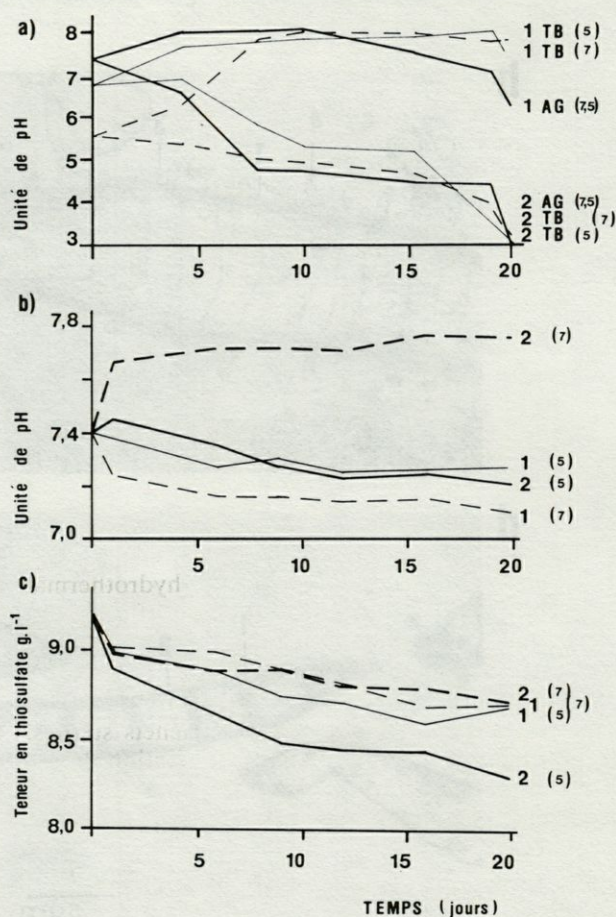
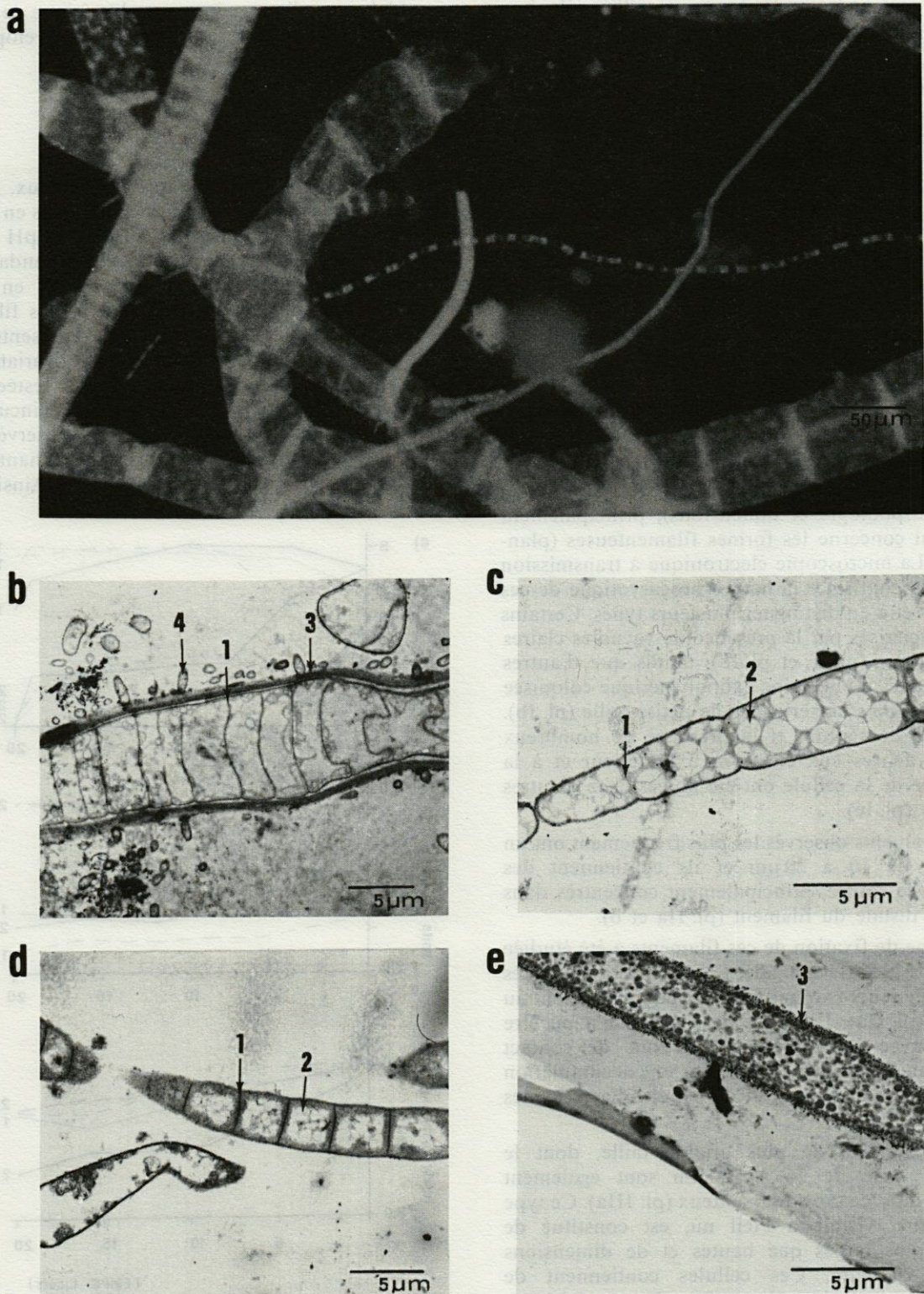


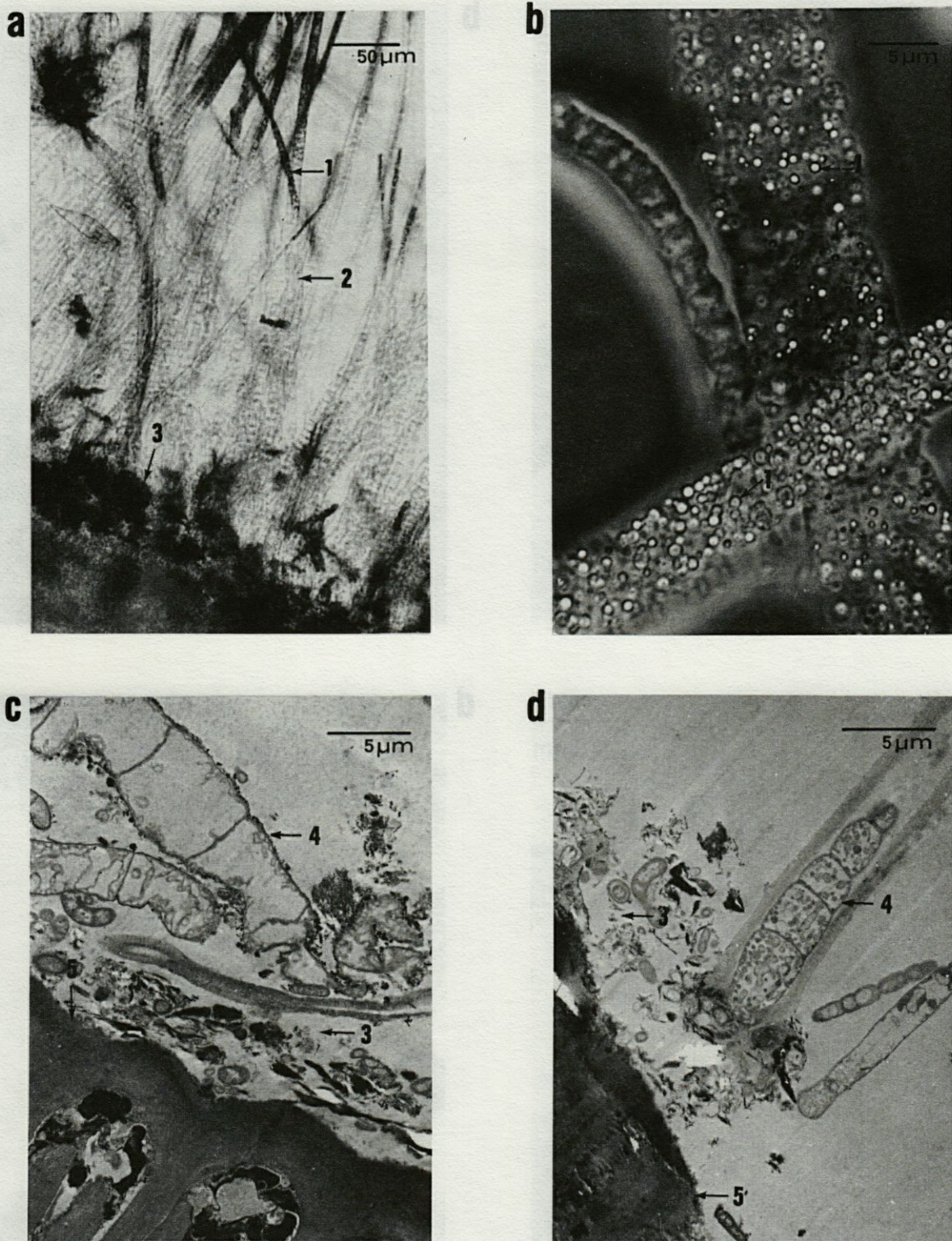
Fig. 2. — Evolution du pH et de la concentration en thiosulfate; a, pH, cultures mixtes; b, pH, cultures pures; c, Thiosulfate, cultures pures. — milieu AG, pH = 7,5; - - milieu TB, pH = 7; - - - milieu TB, pH = 5).

Variation of pH and thiosulfate concentration; a, pH mixed cultures; b, pH, pure cultures; c, Thiosulfate, pure cultures. (— AG medium, PH = 7,5; - - TB medium, pH = 7; - - - TB medium, pH = 5).



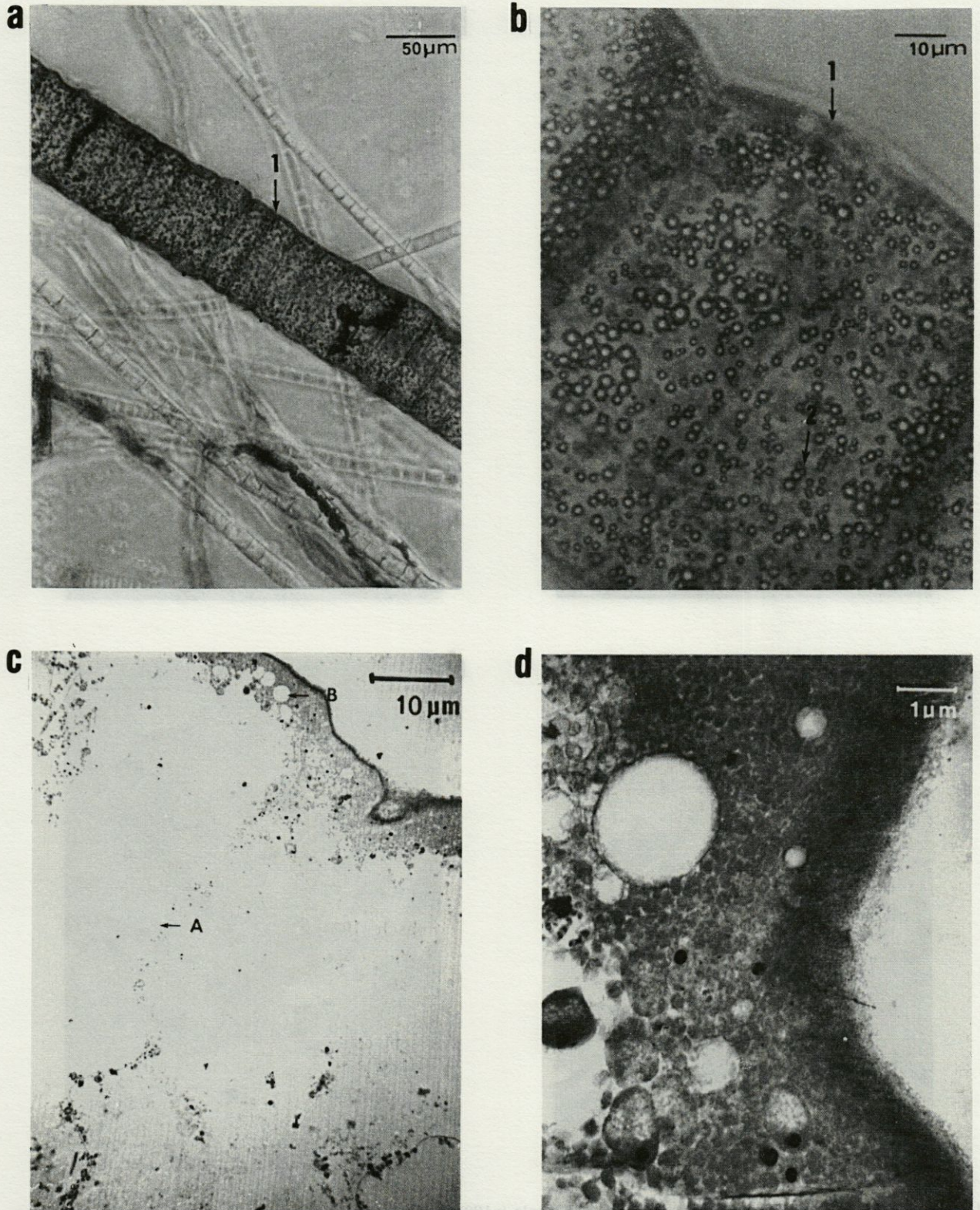
Pl. I. — a, diversité des peuplements filamenteux en microscopie à épifluorescence ($\times 100$); b,c,d,e, différents types bactériens filamenteux en microscopie à transmission; 1, Septum; 2, inclusion claire aux électrons; 3, gaine exopolymérique; 4, bactérie associée.

a, diversity of filamentous communities observed by epifluorescence microscopy ($\times 100$); b,c,d,e, some filamentous forms examined by the transmission electron microscopy; 1, Septum; 2, electron transparent vacuole; 3, exopolymeric layer; 4, associated bacterium.



Pl. II. — a, filaments bactériens fixés sur une surface algale (x100); b, filaments bactériens observés en contraste de phase (x 400); c,d, zone de fixation des communautés bactériennes sur la surface de l'algue (MET); 1, granules de soufre; 2, absence de granules de soufre; 3, zone de fixation; 4, filament fixé; 5, paroi de l'algue.

a, filaments bacteria attached to an algal surface (x 100); b, bacterial filament examined by a phase contrast microscopy (x 400); c,d, area of attachment of the bacterial communities to the algal surface (TEM); 1, sulfur granules; 2, absence of sulfur granules; 3, attachment area; 4, attached filament; 5, algal membrane.



Pl. III. — a, observation des grands filaments en contraste de phase (x100); b, observation des grands filaments en contraste de phase (x400); c,d, observation des grands filaments en microscopie électronique à transmission; 1, cellules individuelles; 2, inclusion de soufre; A, septum; B, inclusion périphérique.

a, the larger filaments observed by phase contrast microscopy (x100); b, the larger filaments observed by phase contrast microscopy (x400); c, d, examination of larger filaments with a transmission electron microscopy; 1, individual cell; 2, sulfur granules; A, septum; B, inclusion at the cell periphery.

des milieux de culture de l'échantillon 2 (TB, pH = 7 et AG, pH = 7,5) peut chuter jusqu'à une valeur voisine de 3. Les augmentations de pH observées dans le cas du premier échantillon sont d'amplitude plus limitée, si ce n'est avec le milieu TB, pH = 5. Si aucun développement filamenteux n'a été observé dans ces cultures, l'adhésion d'une partie des cellules sur la paroi des tubes de culture a été constatée (Fig. 2a).

14 souches cultivées sur ces différents milieux de culture et provenant des échantillons 1 et 2 ont été isolées et purifiées. Les variations de pH obtenues dans le milieu de culture (TB, pH = 7) pour 4 d'entre elles, représentant les différentes origines, sont très faibles pendant les 3 semaines d'incubation (inférieures à une demi unité de pH) (Fig. 2b). Cependant, les concentrations en thiosulfate diminuent régulièrement pour les différentes souches testées (Fig. 2c). Aucune des souches isolées ne présente, en culture, de forme filamenteuse.

Afin de tester leur potentialité hétérotrophe, des repiquages ont été réalisés sur le milieu 2216E. Toutes les souches testées ont la capacité de se développer sur ce milieu.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les tapis filamenteux blanchâtres, constitués de Bactéries filamenteuses, observés sur le site de White-Point, présentent des ressemblances avec ceux décrits sur certains sites hydrothermaux profonds (Jannasch et Wirsén, 1981). En plus, des similitudes macroscopiques, certaines Bactéries filamenteuses semblent communes aux sites côtiers et profonds. C'est en particulier le cas des 2 types dominants du site de White-Point, l'un en raison de sa densité, l'autre en raison de ses dimensions et qui peuvent être rapprochées des filaments décrits par Jannasch et Taylor (1984) sur le site des Galapagos. Les bactéries filamenteuses de 10 à 20 μm de diamètre, peuvent correspondre au genre *Thiotrix* en raison de la structure de leur paroi cellulaire, de la présence d'une gaine exopolymérique et de l'orientation de leur fixation vis-à-vis du substrat (Larkin, 1980). Elles se différencient par contre du genre *Leucothrix* par la présence de granules de soufre intracellulaires et de la gaine exopolymérique (Larkin et Strohl, 1983). Elles se rapprochent donc des formes décrites sur le site des Galapagos, mais possèdent des dimensions supérieures, 10-20 μm contre 2 μm (Jannasch et Taylor, 1984). De même, les caractéristiques des grands filaments permettent leur rapprochement avec les Bactéries associées au genre *Beggiatoa* par Jannasch et Taylor (1984). Toutefois, *Beggiatoa* est selon Laedbetter (1974), une forme filamenteuse non fixée, ce qui semble en contradiction avec les observations réalisées sur le site.

Le mode de fixation des filaments bactériens sur le substrat n'a pas été clairement observé. Toutefois, sur le site étudié, les courants de fond sont importants et le maintien de la couverture filamenteuse nécessite une forte cohésion. Les sécrétions extracellulaires présentes au niveau de certains filaments mais aussi de cellules isolées pourraient, en partie, être responsables de l'adhésion des bactéries sur le substrat, et entre les différentes Bactéries elles-mêmes. En effet, les exopolymères sont responsables de nombreuses fixations bactériennes en milieu marin (Geesey, 1982).

Ni les cultures mixtes d'enrichissement ni celles de souches pures ne présentent de formes filamenteuses, en conditions expérimentales. Plusieurs hypothèses peuvent être proposées pour expliquer ce changement d'aspect des peuplements bactériens. Il est vraisemblable que les associations interspécifiques jouent un rôle important comme le démontre la différence dans l'amplitude de variations du pH observée entre les cultures mixtes et les cultures de souches pures. Mais il semble aussi que les conditions expérimentales peuvent agir. En effet, Jannasch et Taylor (1984) étudiant le développement de peuplements bactériens filamenteux, en milieu côtier, démontrent que l'addition d'ammonium à des concentrations supérieures à celles du milieu naturel favorise la croissance des formes unicellulaires (bâtonnet, cocci et vibrions) au détriment des formes filamenteuses. L'apport d'un support adéquat dans le milieu de culture liquide pourrait également favoriser la fixation des Bactéries et leur développement sous forme filamenteuse.

L'oxydation des composés soufrés, libératrice d'énergie, est importante pour les Bactéries présentes sur les sites hydrothermaux des grandes profondeurs (Jannasch et Wirsén, 1979). Les produits finaux de ce processus d'oxydation sont variables et entraînent soit une acidification (production d' H_2SO_4) soit une alcalinisation des milieux de culture (Tuttle et Jannasch, 1972). L'utilisation du thiosulfate sur le site hydrothermal côtier est similaire à celle observée par Tuttle et Jannasch (1972) en milieu marin pour les bactéries sulfo-oxydantes. Tuttle (1985), assimile les Bactéries des sites hydrothermaux profonds qui réalisent cette oxydation en libérant des composés acides à des chimioautotrophes strictes. Ceci diffère des résultats obtenus sur le site de White-Point, pour lequel les 14 souches étudiées se développent aussi bien en milieu minéral (TB ou AG) qu'en milieu contenant de la matière organique et sont donc plutôt mixotrophes. Ces différentes capacités métaboliques leur permettent d'utiliser à la fois les composés soufrés provenant du fluide hydrothermal et les substances organiques présentes dans l'écosystème littoral.

Le site côtier de White-Point, par sa proximité du rivage et la faible profondeur des rejets hydrothermaux, constitue une zone d'étude particulièrement intéressante. En effet, il est possible d'y étudier les

conditions nécessaires au développement des formes bactériennes filamenteuses mais aussi d'analyser la composition des composés exopolymériques capables d'assurer la cohésion de ce tapis filamenteux. Cependant, bien que des Invertébrés vivants sur le site de White-Point soient extérieurement colonisés par ces filaments bactériens, il ne semble pas qu'il existe sur ce site d'associations Bactéries-Invertébrés comparables à celles des sites profonds. Néanmoins, il est vraisemblable que d'autres rejets hydrothermaux existent sur la côte pacifique des USA et du Mexique et qu'ils puissent fournir de nouveaux modèles d'interactions Bactéries-Invertébrés.

REMERCIEMENTS : Ce travail a été financé par une bourse du Ministère des Relations Extérieures.

BIBLIOGRAPHIE

- ADAIR F.W. & GUNDERSON K., 1969. Chemoautotrophic sulfur bacteria in the marine environment. 1 Isolation, cultivation and distribution. *Can J. Microbiol.*, 15 : 345-353.
- FELBECK H. & SOMERO G.N., 1982. Primary production in deep sea hydrothermal vent organisms : roles of sulfide-oxidizing bacteria. *Trends in Bioch. Sci.*, 7 (6) : 201-204.
- FRY B., GEST H. & HAYES J.M., 1983. Sulfur isotopic compositions of deep sea hydrothermal vent animals. *Nature*, 306 (3) : 51-52.
- GAILL F., DESBRUYERES D., PRIEUR D. et ALAYSE-DANET A.M., 1986. Les relations d'une polychète avec ses bactéries épibiontes (*Alvinella pompejana*) des sources hydrothermales profondes. Gerbam, Deuxième Colloque International de Bactériologie marine. CNRS, IFREMER, Actes de Colloques, 3 : 401-406.
- GEESEY G.G., MUTCH R., COSTERTON J.W. & GREEN R.B., 1978. Sessile bacteria : an important component of the microbial population in small mountain streams. *Limnol. Oceanogr.*, 23 : 1214-1223.
- GEESEY G.G., 1982. Microbial exopolymers : ecological and economic considerations, *A.S.M. News*, 48 (1) : 9-14.
- JANNASCH H.W. & WIRSEN C.O., 1979. Chemosynthetic primary production at East Pacific sea floor spreading centers. *Bioscience*, 29 : 592-598.
- JANNASCH H.W. & WIRSEN, 1981. Morphological survey of microbial mats near deep-sea thermal vents. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41 (2) : 528-537.
- JANNASCH H.W. & TAYLOR C.D., 1984. Deep sea microbiology. *Ann. Rev. Microbiol.*, 41 : 528-538.
- JANNASCH H.W., 1985. The chemosynthetic support of life and the microbial diversity at deep-sea hydrothermal vents. *Proc. R. Soc. Lond.*, 225 : 277-297.
- JANNASCH H.W. & WIRSEN C.O., 1985. The biochemical versatility of chemosynthetic bacteria at deep-sea hydrothermal vents. *Biol. Soc. Wash Bull.*, 6 : 325-334.
- JANNASCH H.W., WIRSEN C.O., NELSON D.C. & ROBERTSON L.A., 1985. *Thiomicrospira crunogena* sp. nov., a colorless, sulfur-oxidizing bacterium from a deep-sea hydrothermal vent. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 35 (4) : 422-424.
- LARKIN J.M., 1980. Isolation of *Thiothrix* in pure culture and observations of a filamentous epiphyte on *Thiothrix*. *Cur. Microbiol.*, 4 : 155-158.
- LARKIN J.M. & STROHL W.R., 1983. *Beggiatoa*, *Thiothrix* and *Thioploca*. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37 : 341-367.
- LAEDBETTER E.R., 1974. Order II. Cytophagales *Nowen novum* — in « Bergey's manual of determinative bacteriology », 8th edition. R.E. BUCHANAN 8, N.E. GIBBONS. Ed. the William 8; Williams Company/Baltimore. 99-116.
- OPPENHEIMER C.H. & ZOBELL C.E., 1952. The growth and viability of sixty three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. *J. Mar. Res.*, 11 : 10-18.
- RAU G.H. & HEDGES J.I., 1978. Carbon 13 depletion in a hydrothermal vent mussel suggestion of a chemosynthetic food source. *Science*, 203 : 648-649.
- RUBY E.G., WIRSEN C.O. & JANNASCH H.W., 1981. Chemolithotrophic sulfur-oxidizing bacteria from the Galapagos rift hydrothermal vents. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42 (2) : 317-324.
- RUBY E.G. & JANNASCH H.W., 1982. Physiological characteristics of *Thiomicrospira* sp. Strain L.-12 isolated from deep-sea hydrothermal vents. *J. Bacteriol.*, 149 (1) : 161-165.
- SPURR A.R., 1969. A low viscosity epoxy resin embedding for electron microscopy. *J. Ultrastruct.*, 26 : 31-43.
- STEIN J.L., 1984. Subtidal gastropods consume sulfur-oxidizing bacteria : Evidence from coastal hydrothermal vents. *Science*, 223 : 696-698.
- STROHL W.R., LARKIN J.M., 1978. Enumeration, isolation, and characterization of *Beggiatoa* from freshwater sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 36 : 755-770.
- TUTTLE J.H. & JANNASCH H.W., 1972. Occurrence and types of *Thiobacillus* like bacteria in the sea. *Limnol. Oceanogr.*, 17 : 532-543.
- TUTTLE J.H., WIRSEN C.O. & JANNASCH H.W., 1983. Microbial activities in the emitted hydrothermal waters of the Galapagos rift vents. *Mar. Biol.*, 73 : 293-299.
- TUTTLE J.H., 1985. The role of sulfur-oxidizing bacteria at deep-sea hydrothermal vents. *Biol. Soc. Wash. Bull.*, 6 : 335-343.
- WIRSEN C.O., TUTTLE J.H. & JANNASCH H.W., 1986. Activities of sulfur-oxidizing bacteria at the 21 ° N East Pacific rise vent site. *Mar. Biol.*, 92 : 449-456.